

UNTERSUCHUNGEN ZUR BESTIMMUNG
DER UMSATZZEIT UND NEUBILDUNGSRATE
DER LYMPHOZYTEN BEI
CHRONISCHER LYMPHATISCHER LEUKÄMIE

Be Swan Lee

'975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551923_0087

Aus der I. Medizinischen Abteilung
des Städtischen Krankenhauses München-Schwabing
Chefarzt: Prof. Dr. H. Begemann

UNTERSUCHUNGEN ZUR BESTIMMUNG
DER UMSATZZEIT UND NEUBILDUNGSRATE DER
LYMPHOZYTEN BEI CHRONISCHER LYMPHATISCHER
LEUKÄMIE.

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Be Swan Lee
aus Semarang (Indonesien)

München
1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Begemann

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Buchborn

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4.2.1975



GLIEDERUNG

- A. Einleitung
- B. Material und Methode:
 - 1. Patient M. S.
 - 2. Patient A. R.
 - 3. Markierungsverfahren, Autoradiographie.
- C. Ergebnisse:
 - 1. Patient M. S.
 - 2. Patient A. R.
- D. Diskussion
- E. Zusammenfassung
- F. Literaturverzeichnis

A. Einleitung.

In der Diskussion des Pathomechanismus der chronisch lymphatischen Leukämie basieren grundlegende theoretische Konzepte - DAMESHEK (14), SCHIFFER (34), BIERMANN (3), RUBIN (33), GALTON (19) - auf wenigen älteren Kalkulationen zur Lymphozytenkinetik der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL).

So bestimmten OSGOOD et al (28) bereits 1952 den Markierungsverlauf der Leukozyten-DNS bei CLL mit P^{32} und CHRISTENSEN und OTTESEN (8) unterzogen ihn mit der gleichen Methode einer mathematischen Analyse. Mit C^{14} -Adenin versuchte HAMILTON (25) eine Bestimmung der durchschnittlichen Überlebenszeit von CLL-Lymphozyten. Diese Ansätze mußten unvollständig bleiben, da sie keine zytologische Differenzierung erlaubten.

Daher wählten zuletzt ZIMMERMANN et al (47) das in zahlreichen kinetischen Untersuchungen (5, 25, 46) anderer hämatologischer Systeme und Erkrankungen erprobte 3H -Thymin zur DNS Markierung und verabfolgten es 11 Patienten als einmalige flash-dosis. Wie die Voruntersuchungen erbrachte die szintigraphisch durchgeführte Analyse des Markierungsverlaufes Hinweise auf eine große langlebige und kleine kurzlebige Zellfraktion bei CLL, die autoradiographisch bestimmte Markierung der einzelnen Zellen wies aber zu große Schwankungen bei relativ niedriger Markierung auf, um Neubildungsraten und Umsatzzeiten der Zellfraktionen definieren zu können. Zudem erlaubten diese Untersuchungen keine Korrelierung des Verhaltens der Blutlymphozyten zur Proliferation in den lymphatischen Organen. Daher wurde im folgenden Ansatz eine kontinuierliche 3H -Thymin-Infusion gewählt (37), wie sie ähnlich schon CLARKSON et al (9) bei akuter myeloischer Leukämie und OHARA et al (27) bei Retikulosarkom durchgeführt hatten. Das Angebot von 3H -TDR in einem definierten Zeitintervall bei CLL-Patienten sollte Aussagen über die Neubildungsrate großer und kleiner Lymphozyten ermöglichen (Lit. 37).

B. Material und Methoden.

Die Untersuchung wurde an zwei älteren männlichen CLL-Patienten unter Berücksichtigung strahlenbiologischer Auflagen durchgeführt, die sich während der Vorbereitungszeit auf die extracorporale Blutbestrahlung zur Untersuchung ihres Lymphozytenumsatzes bereit fanden.

1) Patient M. S.

Aus der Vorgeschichte des bei Beginn der Untersuchung 64-jährigen Friseurs war lediglich eine 3 1/2 Jahre zurückliegende Cholecystektomie bei Lithiasis zu eruieren. Damals habe eine Leukozytose von 12 000/mm³ bestanden, seit 2 1/2 Jahren zunehmende Leistungsinsuffizienz, Abgeschlagenheit und Schweißneigung. Im September 1968 wurde anhand einer Lymphozytose des Blutbildes und lymphatischer Infiltration des daraufhin durchgeführten Knochenmarkausstriches die Verdachtsdiagnose chronisch lymphatische Leukämie gestellt. Im Laufe des folgenden Jahres stiegen die Leukozyten auf 30 000, im nächsten Jahr lagen sie um 40 000, das Allgemeinbefinden verschlechterte sich, erstmals fielen Lymphknoten und Milzschwellung sowie Neigung zu Epistaxis auf.

Der Patient wurde zur extracorporalen Blutbestrahlung zuverlegt. Bei der Aufnahme im Februar 1971 fielen klinisch mäßige Anämiezeichen bei kompensierten Kreislaufverhältnissen auf. Die Milz trat in tiefem Inspirium 2 cm weich unter den Rippenbogen, die Leber schien nicht vergrößert.

Man tastete beiderseits submandibulär, cervical, inguinal und links axillär einzelne bohngroße indolente weich und gut verschiebbliche Lymphknoten; in der rechten Achsel fand sich ein walnußgroßes Lymphom.

Die Röntgen-Aufnahme des Thorax zeigte keine Hilusverbreiterung, die abdominelle Lymphographie wies Speicherdefekte im Bereich der paraaortalen Lymphknoten auf.

Laborwerte: Hb 13 g%, Erythrozyten 4,49 Mio, Hb 29 pg, Leukozyten 120 000, davon 95 % Lymphozyten.

Thrombozyten 75 000/mm³, Retikulozyten 40 ‰.

BKS 14/27, Elektrophorese: 8,1 g%, Ges.E.W.: 56,6 / 2,9 / 5,2 / 7,5 / 27,7.

Immunelektrophoretisch fand sich eine Vermehrung von Ig G auf 3420 mg / 100 ml und Ig M 440 mg / 100 ml ohne Hinweise auf Paraproteinämie.

Bis auf eine geringe Harnstoff- und Creatinin-Erhöhung sonst unauffällige Laborwerte. Letzterem entsprachen in der nephrologischen Isotopendiagnostik Zeichen tubulärer Funktionsstörung.

Das Knochenmarkspunktat zeigte von 200 Zellen 180 Lymphozyten, wobei nur gelegentlich unreife Zellen auftraten. Von der Erythropoese waren fast nur polychromatische Normoblasten zu finden, die Zellen der Granulopoese wiesen Reifungsstörungen auf, mit 5/200 schienen die Eosinophilen vermehrt. In der PHA-Kultur bot sich das typische Bild einer verzögert einsetzenden Transformation auf maximal 1/15 der Normalwerte ohne deutlichen Spätgipfel. Die Tuberkulin-Reaktion mit 0,05 mg Alt-Tb sowie der DNCB-Test fielen negativ aus.

Am 26.2.71 wurde bei dem Patienten am linken Unterarm ein Cimino Shunt unter 3-tägiger Heparininfusion angelegt. Unsere Untersuchung begann am 3.3.71 (= 1. Tag). Während der Untersuchungsdauer traten keine Veränderungen des hämatologischen Status auf, jedoch sanken vom 14. Tag an gleichzeitig mit deutlicher Funktionstüchtigkeit des Shunts die Leukozytenzahlen auf Werte um 80 000 in der 4. Woche.

Am 29. Tag wurde mit der extracorporalen Blutbestrahlung begonnen (täglich 450 rd auf 4 Blutvolumen). Am 41. Tag schon konnte bei einem Lymphozytenwert von 14 000 (73% Lymphozyten) eine Pause eingelegt werden, in der der Shunt leider thrombosierte. Im weiteren Verlauf benötigte der Patient bis jetzt, 15 Monate nach Untersuchungsbeginn keine Strahlen- oder Chemotherapie. Die Lymphozyten stiegen im Verlauf eines Jahres auf $60\,000/\text{mm}^3$, jedoch waren keine neuen Lymphome nachweisbar, lediglich die Milz vergrößerte sich um weitere 2 QF.

2) Patient A. R.

Der zum Zeitpunkt unserer Untersuchung 72-jährige frühere Verwaltungsbeamte gab aus der Vorgeschichte lediglich eine chronische Emphysebronchitis sowie pektanginöse Beschwerden an. Vor 3 Jahren war ein starker Zoster der Lumbalsegmente

aufgetreten, seit 2 Jahren bemerkte er zunehmende Leistungsminderung, Gewichtsabnahme und Schwellungen der Leistenlymphknoten. Anfang 1970 wurde bei 145 000 Leukozyten mit 94 % Lymphozyten, erheblicher Knochenmarksinfiltration, Schwellungen der Leistenlymphknoten und handbreiter Milzvergrößerung die Diagnose einer CLL gestellt und eine Milzbestrahlung durchgeführt (4200 rd in 25 Sitzungen), nach der die Milz- und Lymphknotenschwellungen signifikant zurückgingen und die Leukozyten auf 20 000 abfielen. Ende des Jahres nahmen die Herpeschmerzen und allgemeinen Symptome wieder zu.

Bei der jetztigen Aufnahme wirkte der Patient insgesamt altersentsprechend, jedoch deutlich anämisch, die Milz war derb 8 cm unter dem Rippenbogen tastbar, die Leber um 4 cm verbreitert. In beiden Supraclaviculargruben, beiden Achseln und Leisten tastete man bis zu hühnereigroße, weiche, nicht druckdolente Lymphknoten. Die Röntgenaufnahme des Thorax zeigte beiderseits geringe drüsige Auftreibung der Hili.

Laborwerte: Hb 10,0 g%, Erythrozyten 3,36 Mio, HbE 29,8 pg, Leukozyten 125 500, davon 94 % Lymphozyten, unter denen einzelne größere Formen auffielen.

Thrombozyten 210 000/mm³, Retikulozyten 20 ‰.

BKS 14/35, Elektrophorese 6,5 g% Ges. E.W.: 63,6 / 3,3 / 8,6 / 9,3 / 15,2.

Immunelektrophoretisch waren Ig A auf 66 mg / 100 ml und Ig M auf 21 mg / 100 ml vermindert. Paraprotein waren nicht feststellbar. In der Lymphozytenkultur bot der Patient ebenfalls das typische Defektbild der CLL. Der Tuberkulintest (0,05 mg Alt Tuberkulin) löste ein 0,5 mm großes Infiltrat aus, auch der DNCB Test war mit 1%-iger Lösung schwach positiv.

Unsere Untersuchung setzte am 1.12.70 ein. Während der ersten 8 Wochen waren keine Veränderungen des hämatologischen Status festzustellen und keine therapeutischen Maßnahmen nötig. Ende der 6. Woche erfolgte unter zweitägiger Heparinzufuhr die Anlage eines Cimino-Shunts, der sich aber nicht funktionell ausbildete. Bei spürbarer Wachstumstendenz der axillaren Lymphome wurde von der 9. Woche an täglich 5 mg Leukeran und zweitägig 10 mg Ultralan eingesetzt; darunter sanken die Leukozytenzahlen auf 50 000 ab, die Lymphome gingen zurück, gleich-

zeitig aber sank das Hb auf 6,8 mg %, so daß nach 2 Monaten auf eine neuerliche Milzbestrahlung von 8 Sitzungen übergegangen wurde, nach denen die Leukozyten um 25 000 lagen und die Milz nicht mehr palpabel war. Danach erholte sich das rote Blutbild allmählich; mit einer kürzlich erfolgten Bestrahlung der gering vergrößerten Milz ließ sich ein kompensierter Zustand halten, insbesondere trat kein Lymphknotenwachstum mehr auf.

3) Markierungsverfahren.

Als Isotop verwendeten wir unter Beachtung der Strahlenschutzvorschriften ^3H -Thymidindesoxyribosid (Radiochemical Centre Amersham) von der spezifischen Aktivität 5 Ci/mM in einer Dosierung von 0,15 Ci/kg Körpergewicht/Tag. Zum Zeitpunkt 0 wurden 2/3 der Tagesdosis in Form einer flash Injektion direkt i.v. verabfolgt, um eine sichere Markierung der Wachstumsfraktion zu erreichen, die weitere Verabfolgung erfolgte 7 Tage lang kontinuierlich über eine Dosierpumpe und Subclavia-Katheter. Bei M. S. wurde danach die 100-fache Menge der Tagesdosis kaltes Thymidin/Tag über 1 Woche verabfolgt. Blutproben wurden am 1. Tag stündlich, im weiteren Verlauf in 10- und 14-stündigen Abständen genommen; die Leukozytenzahl wurde im Coulter Counter bestimmt und Ausstriche des peripheren Blutes und von Zellkonzentraten nach bekannter Methode (Lit. 7) durchgeführt. Nach Fixation in Methylalkohol wurden die Präparate in üblicher Weise autoradiographiert (Kodak Strippingfilm AR 10).

Vor der in-vivo-Verabfolgung von ^3H -TDR wurden Proben von heparinisiertem Patientenblut bei 37° C 1 Stunde lang mit 1 $\mu\text{Ci/ml}$ inkubiert, um danach an den verarbeiteten Ausstrichen in gleicher Weise die Fähigkeit der Blutlymphozyten zur DNS-Synthese festzustellen.

Die Auswertung von Probesets erbrachte optimale Markierung kleiner Lymphozyten und noch auswertbare Kornzahl hochmarkierter Blasten um den 100. Tag, so daß nach 100 Tagen Entwicklung erfolgte. Die Auswertung wurde an Giemsa gefärbten Präparaten vorgenommen und die Größenmessung der Kerndurchmesser mit dem Okularmikrometer ausgeführt.

durchschnittlicher Anteil im
Ausstrich

Zytologie:	M. S.	A. R.
Kleine Lymphozyten mit einem Kerndurchmesser bis 10 μ	94 %	93 %
Große Lymphozyten 10,1-13 μ	3 %	4 %
Segmentkernige neutr. Granulo- zyten	2 %	2 %
Stabkernige neutr. Granulozyten	0,2 %	0,3 %
Eosinophile Granulozyten	0,3 %	0,3 %

Die Berücksichtigung nicht-lymphatischer Zellen mußte hier wegen ihres geringen Anteils vernachlässigt werden.

An den peripheren Zellkonzentraten wurden pro Termin 4000 kleine Lymphozyten und 200 große Lymphozyten ausgezählt.

Der Markierungsindex ergab sich als Prozentsatz markierter Zellen jeder Zellfraktion. Die Markierungsintensität wurde durch Auszählung der Körnchenzahlen jeder Zelle festgestellt.

An Leerpräparaten aus der Zeit vor Isotop-Verabfolgung wurde die geringe unspezifische Hintergrundmarkierung für jede Zellfläche festgestellt. Als echte Markierung gingen in den Markierungsindex und die Intensität nur Werte jenseits dieser background-Grenze ein.

C. Ergebnisse

I. Pat. M. S.

1) Die Leukozytenwerte und der Lymphozytenanteil während des untersuchten Zeitraumes sind auf Tabelle I dokumentiert.

2) In-vitro-Markierung mit ^3H -Thymidin.

Kleine Lymphozyten fanden sich weder nach 1- noch nach 2-stündiger Inkubation mit $1 \mu\text{Ci/ml}$ markiert.

Große Lymphozyten waren nach 1-stündiger Inkubation zu 0,3 % mit durchschnittlich hohen Kornzahlen (Mittlere Kornzahlen 120) markiert. Nach einer weiteren Stunde stieg dieser Index nicht an, die mittlere Kornzahl nahm jedoch deutlich zu (mittlere Kornzahl 280).

3) In-vivo-Markierungsverlauf der kleinen Lymphozyten (siehe Grafik 1 und Tabelle II).

In der 4. Stunde nach Beginn der ^3H -Thymidin-Applikation erschienen die ersten markierten kleinen Lymphozyten mit einem Index von 0,1 %. Von da an zeigte sich langsamer progredienter Anstieg auf 2,6 % bei Absetzen des Isotops. Das anschließende Plateau bot noch geringe Anstiegstendenz bis Tag 14 auf 2,8 %, um danach in protrahiertem Abfall ohne signifikante Zwischenbewegungen überzugehen. Die in der 5. Woche einsetzende extracorporale Blutbestrahlung schien diesen Verlauf nicht zu beeinflussen. Das letzte Präparat vom 67. Tag wies noch 0,3 % markierte kleine Lymphozyten auf. Die errechneten absoluten Werte ergaben 2385 markierte kleine Lymphozyten/ mm^3 bei ^3H -Thymidin-Ende, 2482 am 14. Tag und $35/\text{mm}^3$ am 67. Tag. Die mittlere Kornzahl (Grafik 2) stieg während der ^3H -Thymidin-Applikation bis Tag 4 von 40 auf 60 Körner an und blieb bis Tag 7 auf diesem Niveau; danach sank sie allmählich auf 25 in der 4. Woche. Dieser Durchschnittswert hielt sich bis zum 67. Tag. Bei Aufteilung in Gruppen verschiedener Markierungsintensität (Grafik 3) korrelierte zur Abstiegstendenz der mittleren Kornzahl ein rascheres Absinken des Anteils höher markierter und spiegelbildliches Ansteigen der niedriger markierten Zellen.

Zellen der höchsten Intensitätsklasse (über 160 Körner) waren von der 3. Woche an nicht mehr nachweisbar.

4) In-vivo-Markierungsverlauf der großen Lymphozyten (siehe Grafik 1).

Hier fanden sich die ersten markierten Zellen ebenfalls erst in der 4. Stunde (1 %); danach folgte steiler geradliniger Anstieg auf 50 % bei ^3H -Thymidin-Ende und nach wenigen Stunden schon ohne neuerlichen Anstieg Umschlag in ebenso steilen Abfall. Er wurde vom 12. Tag an durch eine deutliche retardierende Komponente unterbrochen, die mit der 3. Woche auslief. Vereinzelte markierte Zellen waren jedoch noch am 42. Tag und 60. Tag zu beobachten. Absolut waren 1418 große Lymphozyten/mm³ bei ^3H -Thymidin-Ende, 341 am Tag 14 und 3/mm³ am Tag 60 markiert. Die mittlere Kornzahl der großen Lymphozyten (Grafik 2) wies einen Anstieg von 50 auf 70 Körner während der ersten drei Markierungstage und anschließend noch während der ^3H -Thymidin-Infusion einsetzenden Abfall parallel dem der kleinen Lymphozyten auf.

Die Kornklassenverteilung zeigte hier weniger ausgeprägt ein relatives Ansteigen niedriger markierter Zellen. Dabei hielten sich Zellen mit über 100 Körnern bis in die 3. Woche und Zellen mit mittlerer Intensität (40-80 Körner) waren mit geringen Schwankungen bis in die 9. Woche vertreten.

TABELLE I. Pat. M.S.

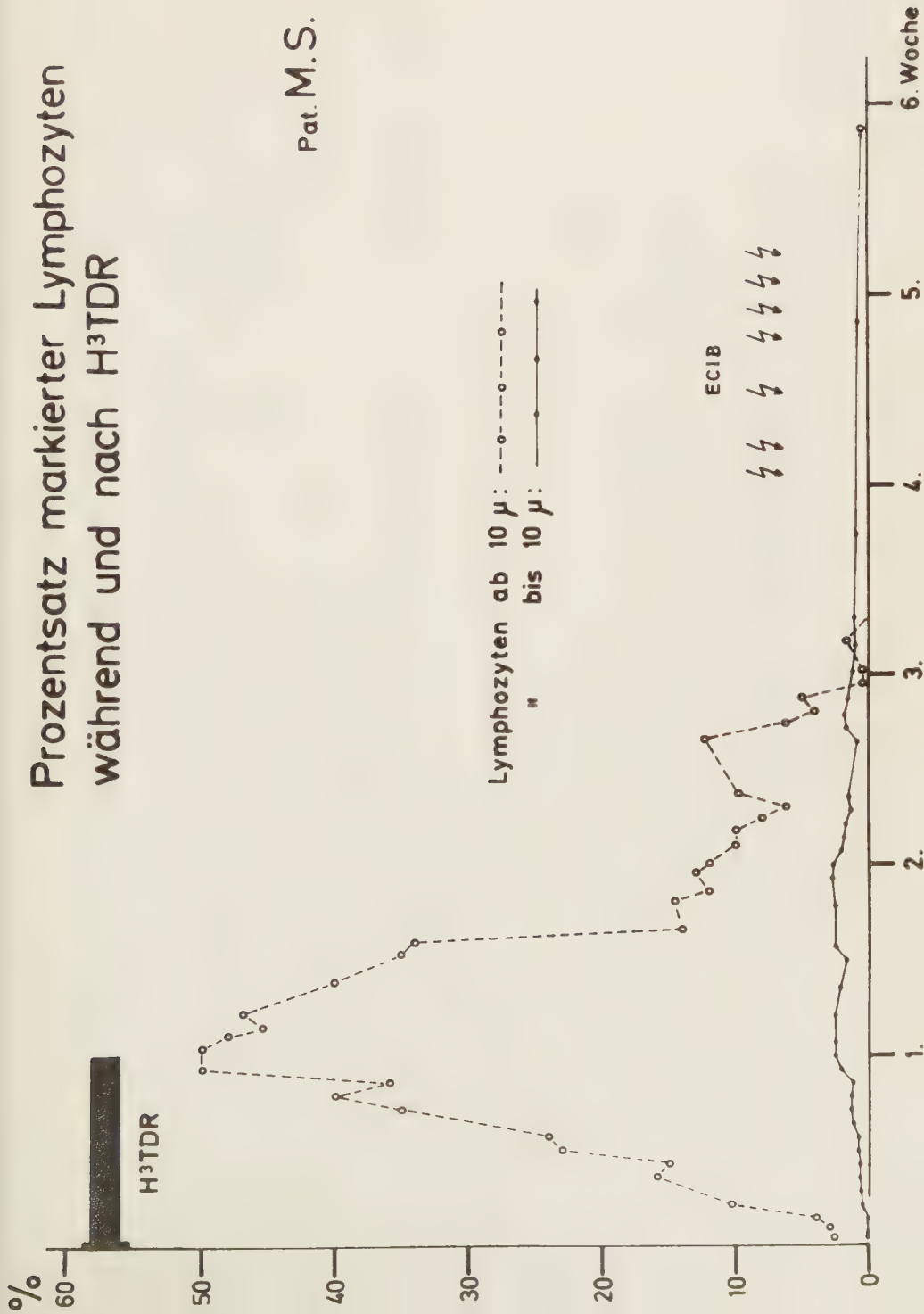
		Std	Abs.leuko- zytenzahl/mm ³	% Anteil der Lympho- zytenzahl	Abs.Lympho- zytenzahl/mm ³	Absolute Zahl der Lymphozyten klein groß	
Tag 1	1	4	107.000	98 %	104.860	101.715	3.145
		5	114.800	98 %	112.504	109.129	3.375
		6	112.200	98 %	109.956	106.658	3.298
		7	117.600	98 %	115.248	111.791	3.457
		8	126.200	98 %	123.676	119.966	3.710
		10	116.600	98 %	114.268	110.840	3.428
Tag 2	12	122.000	98 %	119.560	115.974	3.586	
	24	122.600	94 %	115.244	111.787	3.457	
Tag 3	36	123.400	94 %	115.996	112.516	3.480	
	48	107.600	95 %	102.220	99.153	3.067	
Tag 4	60	116.600	95 %	110.770	107.447	3.323	
	72	110.400	91 %	100.464	97.450	3.014	
Tag 5	84	100.800	91 %	91.728	88.976	2.752	
	96	106.200	98 %	104.076	100.954	3.122	
Tag 6	108	111.000	98 %	108.780	105.517	3.263	
	120	104.200	92 %	95.864	92.988	2.876	
Tag 7	132	108.400	92 %	99.728	96.736	2.992	
	144	115.000	97 %	111.550	108.204	3.346	
Tag 8	156	113.000	97 %	109.610	106.322	3.288	
	168	100.600	94 %	94.564	91.727	2.837	
Tag 9	180	103.800	94 %	97.572	94.645	2.927	
	192	97.200	94 %	91.368	88.627	2.741	
Tag 10	202	98.800	94 %	92.872	90.086	2.786	
	216	102.000	91 %	92.820	90.035	2.785	
Tag 11	226	111.000	91 %	101.010	98.980	3.030	
	240	95.800	98 %	93.884	91.067	2.817	
Tag 12	250	106.200	98 %	104.076	100.954	3.122	
	264	90.400	95 %	85.880	83.304	2.576	
Tag 13	274	96.800	95 %	91.980	89.221	2.759	
	288	95.000	95 %	90.250	87.542	2.708	
Tag 14	300	102.180	93 %	95.027	92.176	2.851	
	312	100.800	94 %	94.752	91.909	2.843	
Tag 15	322	88.200	94 %	82.148	79.684	2.464	
	336	84.200	94 %	79.068	76.696	2.372	
Tag 16	346	92.400	97 %	89.628	86.938	2.689	
	360	87.600	97 %	84.972	82.423	2.549	
Tag 17	370	85.200	97 %	82.644	80.165	2.479	
	384	81.600	96 %	78.336	75.986	2.350	
Tag 18	394	98.200	96 %	94.272	91.444	2.828	
	408						
Tag 19	418						
	432						
Tag 20	442	109.800	96 %	105.408	102.245	3.163	
	456	65.800	91 %	59.878	58.082	1.796	
Tag 21	466	77.400	91 %	70.434	68.321	2.113	
	480	83.200	96 %	79.872	77.476	2.396	
Tag 22	490	65.200	96 %	62.592	60.715	1.877	
	504	68.400	93 %	63.612	61.704	1.908	
Tag 23		74.800	93 %	69.564	67.476	2.086	
Tag 24		70.200	96 %	67.392	65.370	2.022	
Tag 25							
Tag 26							
Tag 27		74.000	92 %	68.080	66.038	2.042	
Tag 28		74.000	90 %	66.600	64.602	1.998	
Tag 36		22.400	97 %	21.728	21.076	652	
Tag 42		15.500	92 %	14.260	13.833	428	
Tag 60		14.100	92 %	12.972	12.472	500	
Tag 67		13.300	90 %	11.970	11.673	297	

TABELLE II. Pat. M.S.

		Markierungsindex (%) der Lymphozyten		Absolute Zahl markierter Lymphozyten	
Std		klein	groß	klein	groß
Tag 1	4	0,1	1	102	31
	5	0,1	2	109	67
	6	0,12	0,4	128	12
	7	0,12	1	134	34
	8	0,15	2	180	74
	10	0,14	2,5	155	86
	12	0,12	2,6	139	93
Tag 2	24	0,16	4	179	138
	36	0,5	11,4	562	397
Tag 3	48	0,6	13	595	399
	60	0,7	16	752	532
Tag 4	72	0,67	15	653	452
	84	0,86	23	765	633
Tag 5	96	0,86	24	868	749
	108	1,2	29	1266	946
Tag 6	120	1,4	35	1302	1007
	132	1,4	40	1354	1197
Tag 7	144	1,3	36	1407	1205
	156	2,0	50	2126	1644
Tag 8	168	2,4	50	2385	1418
	180	2,6	48	2461	1405
Tag 9	192	2,6	45	2304	1133
	202	2,6	47	2342	1309
Tag 10	216	2,4	44	2161	1225
	226	2,2	40	2177	1212
Tag 11	240	2,1	38	1912	1070
	250	2,0	35	2019	1093
Tag 12	264	2,6	34	2166	876
	274	2,6	14	2320	386
Tag 13	288	2,6	14	2276	379
	300	2,6	14,5	2396	413
Tag 14	312	2,7	12	2482	341
	322	2,8	13	2231	320
Tag 15	336	2,7	12	2070	285
	346	2,1	10	1826	269
Tag 16	360	1,9	10	1566	255
	370	1,8	8	1443	198
Tag 17	384	1,5	6	1140	141
	394	1,6	10	1463	283
Tag 18	408				
	418				
Tag 19	432				
	442	1	12	1022	380
Tag 20	456	1,7	6	987	108
	466	1,8	4	1330	85
Tag 21	480	1,6	5	1240	120
	490	1,3	0,5	789	9
Tag 22	504	1,2	0,5	740	9
Tag 23		1,2	2	810	42
Tag 24		1,2	0	784	0
Tag 25					
Tag 26					
Tag 27		1	0	660	0
Tag 28		0,9	0	581	0
Tag 36		0,6	0	126	0
Tag 42		0,6	0,5	82	2
Tag 60		0,4	0,6	40	3
Tag 67		0,3	0	35	0

Prozentsatz markierter Lymphozyten während und nach H³TDR

Pat. M.S.

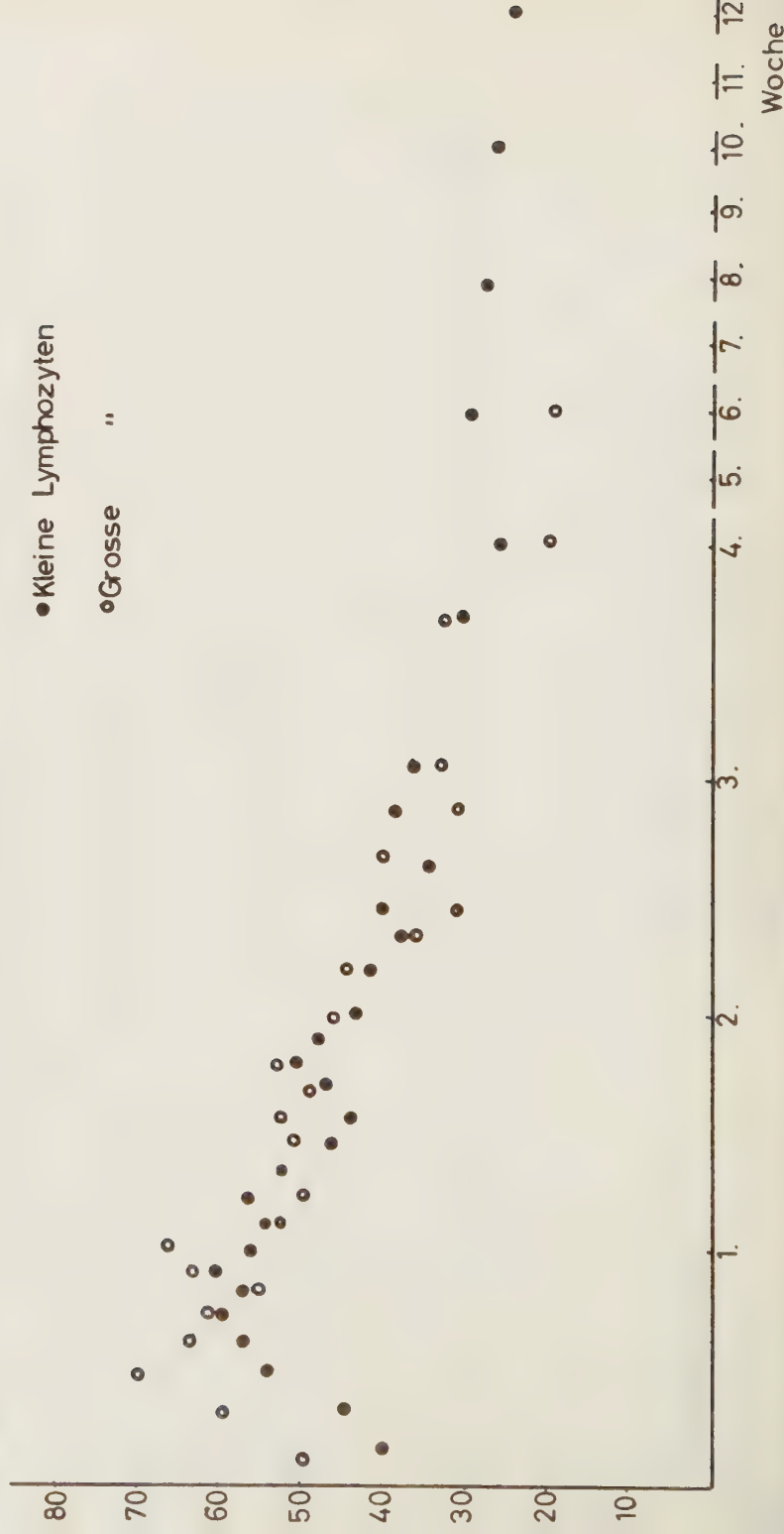


MITTLERE KORNZAHLEN (Pat. M.S.)

Körner

● Kleine Lymphozyten

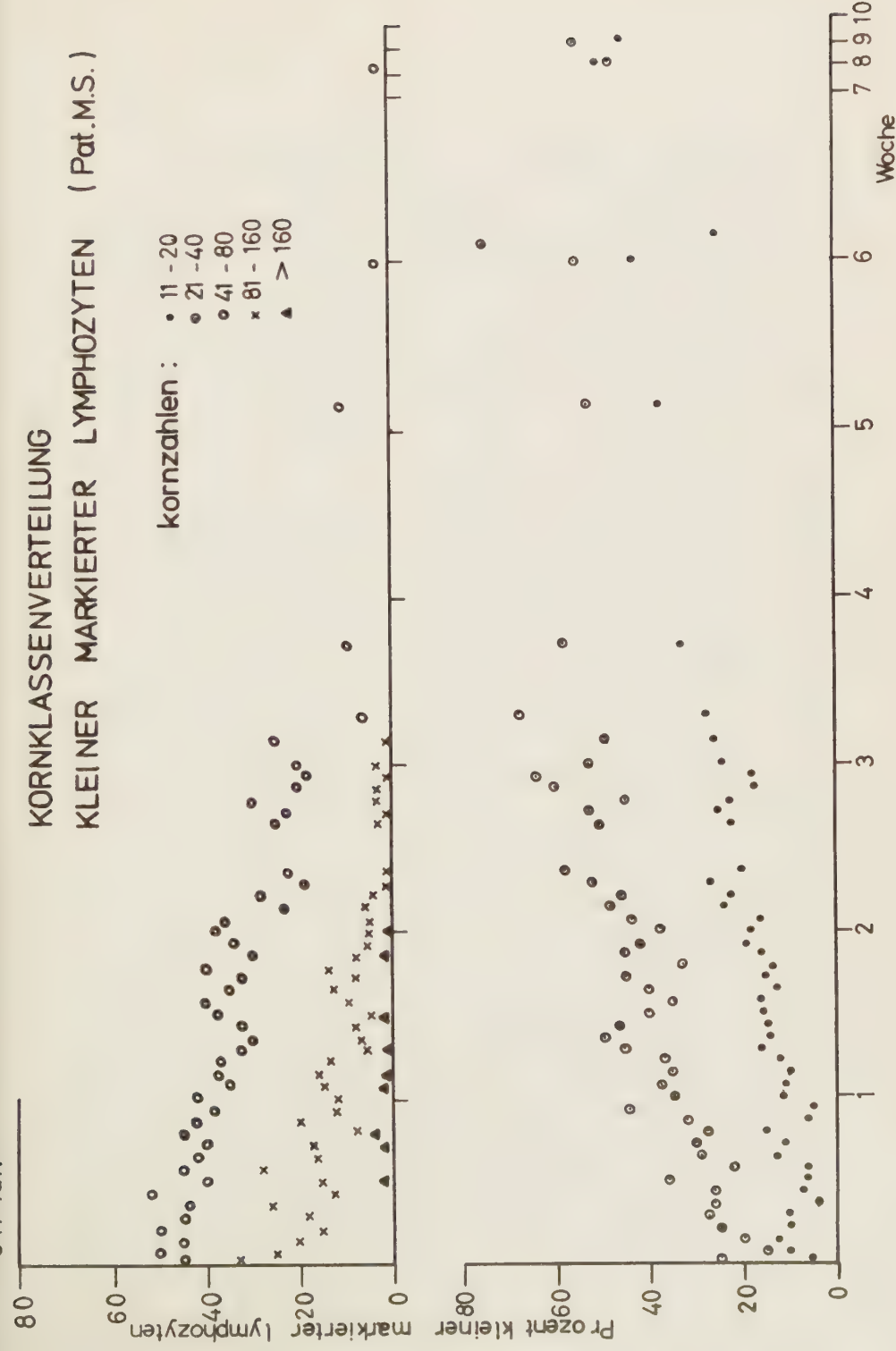
○ Grosse "



KORNKLASSENVERTEILUNG KLEINER MARKIERTER LYMPHOZYTEN (Pat.M.S.)

kornzahlen :

- 11 - 20
- ◉ 21 - 40
- ◊ 41 - 80
- × 81 - 160
- ▲ > 160



II. Pat. A. R.

Die aus Grafik 4 und Tabelle III und IV zu ersiehenden Markierungsverläufe des zweiten Patienten ähnelten denen von M. S. weitgehend, zeitweise bis zu völliger Kongruenz, so daß ich mich im folgenden stichwortartig auf spezielle Abweichungen und Eckwerte beschränken kann.

1) Ersterscheinen markierter kleiner Lymphozyten in der 12. Stunde (0,04 %) flacher Anstieg auf 1,7 % bei ^3H -TDR-Infusionsende; anhaltendes Plateau mit Werten bis 1,8 % am 14. Tag; erst von der 4. Woche an eindeutiger protrahierter Abfall, der nur von einem kürzeren Anstieg auf 1,2 % während Heparininfusion unterbrochen wird.

Die einsetzende Chlorambucil-Therapie scheint die Tendenz der Kurve nicht zu beeinflussen. Im letzten bisher ausgewerteten Präparat vom 222. Tag waren noch 0,2 % kleine Lymphozyten markiert. In absoluten Werten waren bei Markierungsende 1622 kleine Lymphozyten/mm³, am 14. Tag 1806/mm³ und am Tag 222 noch 24/mm³ markiert. Die mittlere Kornzahl (siehe Grafik 5) stieg ebenfalls bis Tag 4 von 40 auf 55 Körner, fiel danach langsam ab und pendelte sich um 25 Korn bis zum Ende der Beobachtungszeit ein. Die Aufteilung in Intensitätsklassen erbrachte wie bei M. S. spiegelbildliches Verschwinden der höher Markierten bei Anstieg des Anteils niedriger Markierter. Die Höchstmarkierten waren hier in der 2. Woche zuletzt nachweisbar; bis in die 18. Woche hielten sich aber vereinzelt kleine Lymphozyten mit einer Markierungsintensität zu 80 und 160 Körnern.

2) Markierungsverlauf der großen Lymphozyten (siehe Grafik 4). Die großen Lymphozyten traten mit 1 % Markierungsindex in der 12. Stunde auf; sie erreichten bei ^3H -TDR-Ende 62 % und stiegen noch 24 Stunden danach bis auf 68 %, um nun wie bei M. S. steilen Abfall mit Verlangsamung vom 12. Tag an zu zeigen. In der 7. Woche erfolgt wie bei den kleinen Lymphozyten ein kurzer Zwischenanstieg unter Heparin. Die letzten markierten großen Lymphozyten konnten am Tag 151 gesehen werden (0,05 %). In absoluten Werten waren bei Ende der ^3H -TDR-Infusion 1817/mm³ große Lymphozyten markiert, ihr Maximum betrug 2720/mm³ am 9. Tag; am Tag 151 waren es noch 2/mm³. Die mittlere Kornzahl (siehe Grafik 5) fiel bis zum 4. Tag ab, stieg dann bis zum

^3H -TDR-Ende an und sank in der Folgezeit parallel den Werten der kleinen Lymphozyten allmählich auf Werte um 20 Körner ab. Die Intensitätsklassen boten das bei M. S. beschriebene Muster.

TABELLE III. Pat. A. R.

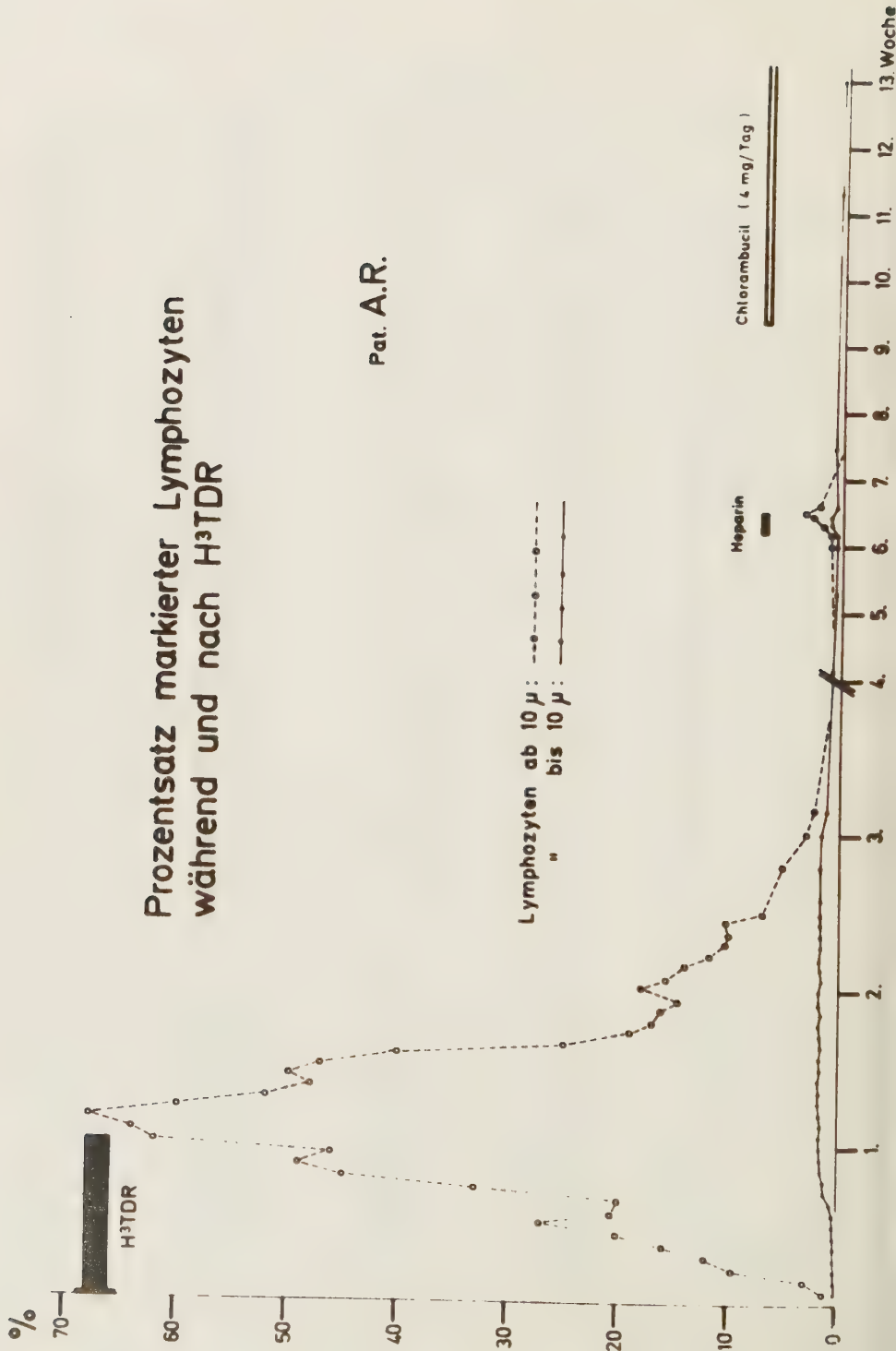
	Std	Abs. Leuko- zytenzahl/mm ³	% Anteil der Lympho- zytenzahl	Abs. Lympho- zytenzahl/mm ³	Absolute Zahl der Lymphozyten	
					klein	groß
Tag 1	12	110.000	85 %	93.500	90.695	2.805
Tag 2	24	130.000	90 %	117.000	113.490	3.510
	36	142.800	90 %	128.520	124.665	3.855
Tag 3	48	138.000	88 %	121.440	117.797	3.643
	60	143.000	88 %	125.840	122.665	3.775
Tag 4	72	128.200	95 %	121.790	118.137	3.653
	84	128.000	95 %	121.600	117.952	3.648
Tag 5	96	124.400	93 %	115.692	112.221	3.471
	108	123.600	93 %	114.948	111.500	3.448
Tag 6	120	124.000	89 %	110.360	107.050	3.310
	132	136.200	89 %	111.218	107.882	3.336
Tag 7	144	123.400	82 %	101.188	98.152	3.036
	156	131.400	82 %	107.748	104.516	3.232
Tag 8	166	115.000	85 %	97.750	94.818	2.932
	180	142.800	85 %	121.380	116.739	3.641
Tag 9	192	140.400	95 %	133.380	129.379	4.001
	204	144.800	95 %	137.560	133.433	4.127
Tag 10	215	111.800	88 %	98.384	95.433	2.951
	225	116.000	88 %	102.080	99.018	3.062
Tag 11	239	119.400	90 %	107.460	104.236	3.224
	249	128.200	90 %	115.380	111.919	3.461
Tag 12	264	134.000	90 %	120.600	116.982	3.618
	276	124.500	90 %	112.050	108.688	3.362
Tag 13	288	130.000	93 %	120.900	117.273	3.627
	300	129.000	93 %	119.970	116.371	3.599
Tag 14	312	125.200	93 %	116.436	112.943	3.493
	324	131.800	93 %	122.574	118.897	3.677
Tag 15	336	124.600	92 %	114.632	111.193	3.439
	348	128.800	92 %	118.496	114.941	3.555
Tag 16	360	112.800	89 %	100.392	97.380	3.012
	372	133.000	89 %	118.370	114.819	3.551
Tag 17	384	136.000	89 %	121.040	117.409	3.631
	396	123.800	89 %	110.182	106.874	3.305
Tag 18	408	128.000	97 %	124.160	120.435	3.725
	420	138.400	97 %	134.248	130.221	4.027
Tag 19	432	135.600	96 %	130.176	126.271	3.905
	444					
Tag 20	456					
	468	136.200	96 %	130.752	120.729	3.923
Tag 21	479	123.800	98 %	121.324	118.684	3.640
Tag 22	504	118.800	92 %	109.296	106.017	3.279
Tag 23	528	120.000	94 %	112.800	109.416	3.384
Tag 30		138.600	96 %	133.056	129.064	3.992
Tag 38		130.600	98 %	127.988	124.148	3.840
Tag 43		131.400	95 %	124.830	121.085	3.745
Tag 44		129.400	90 %	116.460	112.967	3.493
Tag 45		127.600	96 %	112.496	109.121	3.375
		120.400	96 %	115.584	112.117	3.467
Tag 46		128.800	96 %	123.648	119.939	3.709
		135.000	92 %	124.200	120.474	3.726
Tag 47		105.200	91 %	95.732	92.860	2.872
Tag 49		102.000	93 %	94.860	92.020	2.845
Tag 51		134.800	90 %	121.320	117.680	3.640

TABELLE IV. Pat. A. R.

	Std	Markierungsindex (%) der Lymphozyten		Absolute Zahl markierter Lymphozyten	
		klein	groß	klein	groß
Tag 1	12	0,04	1	27	28
Tag 2	24	0,06	3	66	105
	36	0,1	9,5	128	366
Tag 3	48	0,2	12	241	437
	60	0,15	16	209	604
Tag 4	72	0,25	20	327	730
	84	0,4	27	477	985
Tag 5	96	0,5	20,5	597	711
	105	0,7	20	763	690
Tag 6	120	1,2	33	1252	1092
	132	1,3	45	1375	1501
Tag 7	144	1,5	49	1451	1487
	156	1,64	46	1755	1486
Tag 8	166	1,7	62	1622	1817
	180	1,74	64	2130	2330
Tag 9	192	1,7	68	2444	2720
	204	1,75	60	2367	2476
Tag 10	215	1,8	52	1699	1535
	225	1,7	48	1841	1469
Tag 11	239	1,8	50	1855	1612
	249	1,8	47	1991	1626
Tag 12	264	1,74	37	2058	1338
	276	1,6	25	1863	840
Tag 13	288	1,7	19	2051	689
	300	1,8	17	2106	611
Tag 14	312	1,6	16,5	1806	576
	324	1,8	14,5	2146	533
Tag 15	336	1,8	18	2022	619
	348	1,56	15,5	1804	551
Tag 16	360	1,7	14	1683	421
	372	1,8	12	2043	426
Tag 17	384	1,75	10,5	2077	381
	396	1,7	10	1800	330
Tag 18	408	1,7	10,5	2040	391
	420	1,66	7	2141	282
Tag 19	432	1,7	6,5	2152	253
	444				
Tag 20	456				
	468	1,7	5	2128	196
Tag 21	479	1,7	4,5	1992	164
Tag 22	504	1,66	3	1716	98
Tag 23	528	1,4	2	1563	67
Tag 30		0,8	0,2	1003	8
Tag 38		0,6	0,3	694	11
Tag 43		0,7	0,3	798	11
Tag 44		0,72	0,4	846	14
Tag 45		0,9	1,5	959	50
		1,0	2,5	1143	86
Tag 46		1,0	3,0	1486	111
		1,2	2,0	1300	74
Tag 47		1,0	1,0	845	29
Tag 49		0,6	0,5	543	14
Tag 51		0,4	0	488	0

Prozentsatz markierter Lymphozyten während und nach H³TDR

Pat. A.R.



MITTLERE KORNZAHLEN (Pat. A. R.)

Körner

● Kleine Lymphozyten

○ Grosse "

2

3

4

5

6

7

8

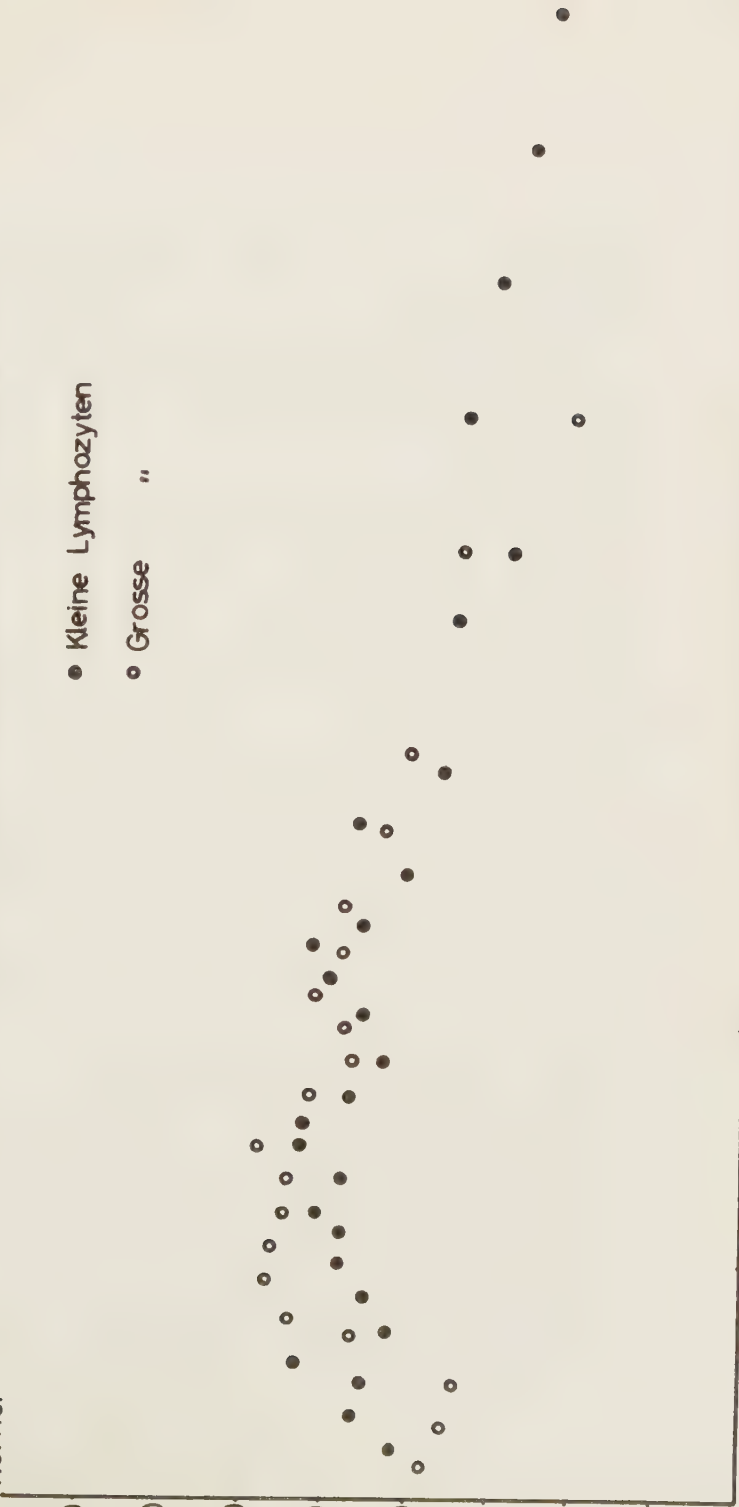
9

10

11

12

Woche



Diskussion.

Die dargelegten Befunde werden unter folgenden Voraussetzungen diskutiert:

1. Mit ^3H -TDR wurde eine stabile DNS-Markierung jeder während der 7-tägigen Infusionsdauer in DNS-Synthese-Phase ein-tretenden G_1 -Zelle ("aktive Markierung") und jeder neu-gebildeten G_0 -Zelle ("passive Markierung") erzielt.
(26/35/46)
2. Die oft kinetische Interpretationen sehr störende Reutili-sation von ^3H -Thyminidin markierten DNS-Fragmenten spielt während der ^3H -TDR-Infusion im Vergleich zum exogenen An-gebot keine Rolle; auch später scheint dieser Faktor hier unbedeutend zu sein, denn:
 - a) bereits von der 2. Woche an stehen kaum noch große Lymphozyten als Lieferanten markierten Materials zur Verfügung,
 - b) der extrem niedrige Umsatz der kleinen Lymphozyten bringt keinen nennenswerten Anfall utilisierbaren Materials mit sich,
 - c) für kleine Lymphozyten gilt insbesondere, daß sie Markie-rung nur über die Vorläuferzelle erhalten (siehe unten), und diese Markierung bei Reutilisationsmarkierung und fol-gender Halbierung in den Backgroundbereich verdünnt würde.
 - d) Der identische Kurvenverlauf bei M. S. mit und bei A. R. ohne kaltem Thyminidin spricht ebenfalls gegen nennenswerte Reutilisation.
3. Eindeutige Hinweise auf strahlentoxischen Effekt von ^3H -TDR in der verwendeten Dosis sind nicht zu gewinnen.
GREENBERG (20) fand bei 4-facher Dosis bei akuter Leukose eine Reduktion der Blasten auf 1 : 10.
In unserem Ansatz zeigten weder Blasten im Lymphknoten (42), noch die hochmarkierten großen Lymphozyten des peripheren Blutes ein Absinken in der Zeitspanne maximaler Markierung. Nach neueren Ergebnissen von HAAS und FLIEDNER (21/22) fanden sich beim 12-fachen der hier verwendeten Dosis im Rattenexperiment keine Schädigung hämatologischer Zell-systeme.

4. Bei Beendigung der exogenen ^3H -TDR-Zufuhr ist das rasch katabolisierte tritiierte Nucleosid durchschnittlich noch eine Stunde verfügbar (10/12), ein weiterer Anstieg des Markierungsindex eines Zelltyps muß bei zu vernachlässigender Reutilisation somit auf die Teilung oder Transformation vorher markierter Vorläuferzellen zurückgeführt werden.
5. Nach den vitro-Inkubationen des peripheren Blutes und Voruntersuchungen am Lymphknoten (38/39) dürfen die kleinen Lymphozyten als G_0 -Zellen angesehen werden. Ihr Markierungsindex läßt aus dem Ansteigen während der ^3H -TDR-Applikation eine Extrapolierung auf den Zeitpunkt 100%iger Erneuerung der Population und damit auf die mittlere Umsatzzeit, die einer durchschnittlichen Lebenserwartungszeit der Zellen in diesem Compartment entspricht zu. Diese Methode setzt steady-state-Bedingungen während der Untersuchung voraus. Im nicht auszuschließenden Falle teilweise exponentiellen Wachstums (A. R.) stellen die errechneten Werte untere Grenzen der Umsatzzeiten dar.
6. Aus dem Anstieg des Markierungsindex läßt sich auch die Einstromrate neugebildeter Zellen in dieses Compartment kalkulieren, wenn man annimmt, daß keine Zellen es in der Phase des Anstiegs verlassen; anderenfalls stellt die errechnete Einstromrate nur einen Minimalwert dar. Diese Einstromrate entspricht der realen Neubildungsrate um so mehr, je gleichmäßiger der Austausch neugebildeter Zellen zwischen Blut und Gewebe ist.
7. Obige Kalkulationen gelten unter der Prämisse der Homogenität der Population. Entsprechen bei randomloss-Verhältnissen die Abklingraten der Markierungsverläufe nicht den errechneten Umsatzzeiten, ist dies als Beweis der Inhomogenität zu werten; rascheres Abklingen der markierten Zellen spräche dann für längere durchschnittliche Umsatzzeiten, als sie die markierten Zellen errechnen lassen.

Somit lassen sich für die kleinen Blut-Lymphozyten der untersuchten CLL-Patienten folgende Feststellungen treffen:

- a) Der gefundene Zeitpunkt des Ersterscheinens markierter Zellen nach 4 bzw. 12 Stunden entspricht der Minimalzeit für das Ende von S plus G_2 und M der Vorläuferzelle und

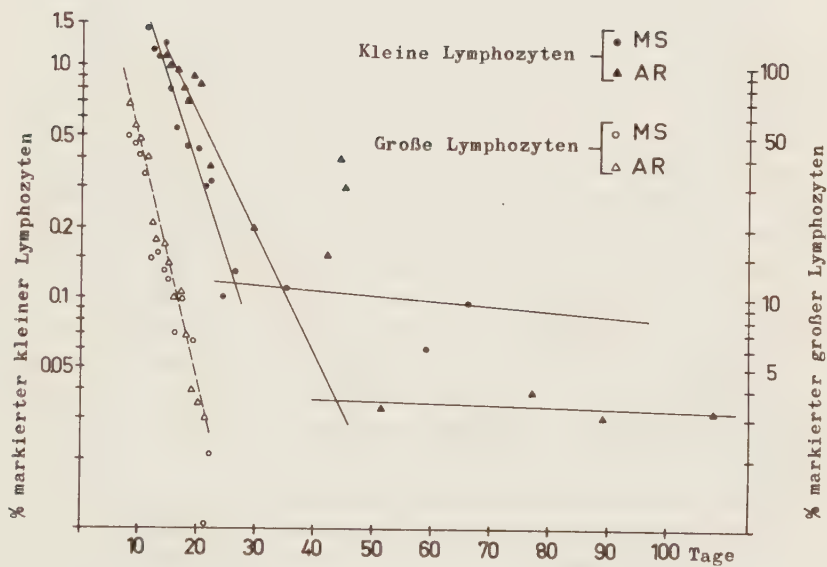
Ausschwemmungszeit (=emergence time (17)) des kleinen Lymphozyten.

- b) Aus dem Markierungsindex am Ende der ^3H -TDR-Infusion errechnet sich eine durchschnittliche Umsatzzeit für 100 % von 269 Tagen (M. S.) bzw. 416 Tagen (A. R.).
- c) Aus den errechneten Umsatzzeiten ergeben sich relative Neubildungsraten von 0,37 % pro Tag bzw. 0,24 % pro Tag und eine absolute Neubildung von 340 (M. S.) bzw. 230 (A. R.) kleinen Lymphozyten/ mm^3/d .

Grafisch resultierende Abklingtangenten würden aber bereits nach 45 (M. S.) bzw. 63 (A. R.) Tagen die Nulllinie erreichen, sie sinken also signifikant kürzer als die Umsatzzeiten und entsprechen nicht den gefundenen Spätwerten. Diese Inkongruenzen sind bei Inhomogenität der Populationen zu erwarten; sie läßt sich auch durch Zerlegung der Abstiegstangenten, in eine steilere und eine flach verlaufenden Komponente besonders deutlich zeigen (siehe Grafik 6).

Somit (siehe Voraussetzung 7) sind für die Majorität der kleinen Lymphozyten weitaus längere Umsatzzeiten als die gefundenen durchschnittlichen und für eine Minorität kürzere zu veranschlagen. Dies korreliert sehr gut der bei Aufteilung in Klassen verschiedener Markierungsintensität gefundenen rascheren Elimination hoch markierter Zellen (siehe Grafik 3), die nach den in der steilen Abstiegstangente ermittelten Zeitpunkten nicht mehr nachweisbar sind. Die Vorläufer dieser Zellen müssen im Markierungszeitraum häufiger durch die S-Phase gegangen sein als die niedriger markierten Zellen, also ebenfalls einen rascheren Umsatz gehabt haben. Da rascher Umsatz und rasche Elimination aktive Immunzellen mit funktionellem Verbrauch charakterisieren (41), ließe sich in den gefundenen rascher umsetzenden Zellen die noch immunologisch aktive Population der CLL sehen, während die immunologisch inerte Majorität den langsam umgesetzten typischen CLL-Zellen entspricht.

Vergleichen wir mit diesen Befunden zunächst die verfügbaren tierexperimentellen Daten, so wird von CRONKITE et al, die durchschnittliche Umsatzzeit der kleinen Blutlymphozyten bei Ratten mit ca. 60 Tagen angegeben (12); dies entspricht der von ROBINSON et al. (32) angegebenen mittleren Überlebenszeit von 30 Tagen; letzterer aber fand wie schon EVERETT (15) Hinweise für



Semilogarithmische Abfallkurve der stärksten Markierungs-Intensitätsgruppe (über 40 Körner) kleiner Lymphozyten und der großen Lymphozyten nach Ende der ^3H -TDR-Zufuhr.

Unterfraktionen mit kurzen Umsatzzeiten von ca. 16 Tagen neben einer 5 - 8 % umfassenden Fraktion mit einer Lebenszeit von 270 Tagen. Am hämatologisch gesunden Menschen fand OTTESEN (29) allerdings ohne Abtrennung der kleinen Lymphozyten, von Monozyten und großen Lymphozyten und ohne Ausschluß der Reutilisation des verwendeten P^{32} , Hinweise auf eine kurzlebige Lymphozytenfraktion mit Umsatzzeiten von 4 Tagen und eine langlebige (74 %) mit einer Lebenszeit bis 200 Tagen. Extrem langsamer Umsatz eines kleinen Teils der Lymphozyten konnte über die Verfolgung erworbener Chromosomendefekte bestätigt werden; so fanden sich einzelne Zellen mit Lebenszeiten von 8 - 22 Jahren (1,11). 3H -Thymidin wurde bei Normalpersonen verständlicherweise bisher nur in flash-Injektionen eingesetzt. Damit fanden CRONKITE et al (11) vom 2. Tag an markierte kleine Lymphozyten mit einem Index von unter 0,1 %. In den flash-Untersuchungen von FLIEDNER et al (19) erreichten große und kleine Lymphozyten zusammen maximal 10 % Markierungsindex nach 50 Stunden, was einer summarischen Neubildungsrate von 5 %/Tag entspräche.

WAGNER und ECKMANN (45) fanden nach flash-Injektion kleine Ductuslymphozyten zu 0,5 % mit Anstieg auf 4,3 % nach 20 Stunden markiert, was ebenfalls eine durchschnittliche Neubildungsrate von 5 %/Tag ergäbe. Mit unserem Ansatz ist lediglich der von CLARKSON (9) vergleichbar, der 8 - 10-tägige 3H -Thymidininfusionen bei Patienten mit akuter Myelose durchführte; bei 3 Patienten war hier die Lymphozytenmarkierung verfolgbar. Aus den maximal erreichten Markierungsindizes errechnen sich Neubildungsraten der kleinen Lymphozyten von 0,6 %/Tag, 1,5 %/Tag und 3 %/Tag, respektive Umsatzzeiten von 166, 60 und 33 Tagen. Somit lägen die meisten vergleichbaren durchschnittlichen Neubildungsraten normaler kleiner Lymphozyten signifikant um das 5 - 10fache über den von uns ermittelten durchschnittlichen Neubildungsraten der CLL-Lymphozyten. Allenfalls die niedrigen Neubildungsraten kleiner langlebiger Fraktionen, extreme Einzelwerte ausgenommen, erreichen die Größenordnung der ermittelten minimalen Umsatzzeiten der Majorität kleiner CLL-Lymphozyten. Vergleichen wir mit unseren Daten die Ergebnisse der eingangzitierten Untersuchungen zur CLL-Kinetik, so liegen die Kalkulationen OSGOODS (28), der keine Zelldifferenzierung vornehmen konnte, mit 100 %/Tagen Umsatzzeit und 1 % Neubildungsrate

weit darüber. In ihren Bereich fallen auch HAMILTONS (23) Berechnungen einer durchschnittlichen Lebenserwartungszeit kleiner CLL-Lymphozyten um 85 Tagen. Hier waren allerdings einige Zellen noch nach 300 Tagen nachweisbar. Über mathematisch differenziertere Analyse des DNA- P^{32} -Umsatzes bei CLL-fanden CHRISTENSEN und OTTESEN (8), allerdings auch ohne zytologische Differenzierung, bei 2 Patienten Umsatzzeiten von 0,11 % und 0,10 %, die unseren Werten nahekomen; in einem Fall ergaben sich ebenfalls Hinweise auf eine schneller umsetzende Fraktion. Bei ZIMMERMANN (47) lassen sich aus den wenigen autoradiographisch gewonnenen Markierungsindices kleiner Lymphozyten, die leider in großen Abständen nur bis zur 410. Stunde verfolgt wurden, Neubildungsraten von 0,04, 0,07 und 0,3 %/Tag erschließen, die so zum Teil in dem Bereich der Werte unserer Fälle, bzw. darunter liegen. Bei den organomegalen Verläufen ergaben sich etwa 1/10 niedrigere Neubildungsraten. Die zitierten Befunde stehen ebenso wie unsere Daten im Gegensatz zu den Ergebnissen von PFISTERER et al (30), wenn aus einer gegenüber normal beschleunigten Elimination Cr^{51} -markierter CLL-Lymphozyten ein rascher Umsatz erschlossen wird. Hier sind technische Fehlerquellen, wie unterschiedliche Membranfixation oder höhere Strahlensensibilität sowie rasches Abwandern in den marginalen Pool, wie es SPIVAK und PERRY (36) bei ähnlicher Methode sehen, zu diskutieren.

Die großen Lymphozyten des Blutes müssen nach den niedrigen Indices in vitro sowie nach dem späten Auftreten markierter Zellen in vivo und der langen Persistenz nach Infusionsende zu über 99 % als passiv, vom Vorläufer her, markierte G_0 -Zellen gelten. Wollte man in ihnen aktiv im Lymphknoten markierte und danach ausgeschwemmte Zellen sehen, so befänden sie sich in G_2 , was wegen der Kürze dieser Phase nur einen geringen Zellanteil ausmachen könnte. Aus den Gipfelwerten bei Markierungsende errechnet sich eine durchschnittliche Umsatzzeit von 14 Tagen (M. S.) bzw. 11 Tagen (A. R.). Daraus resultiert eine Neubildungsrate von 7 %/Tag (M. S.) bzw. 9 %/Tag (A. R.). Die absolute Neuproduktion beliefe sich demnach bei M. S. auf 240 große Lymphozyten/mm³/d und bei A. R. auf 460/mm³/d, übertrifft also bei A. R. sogar die absolute Neuproduktion kleiner Lymphozyten.

Bei den extrem spät noch markiert gefundenen großen Lymphozyten ist neben langer Lebenszeit auch die Möglichkeit der Transformation aus kleinen Lymphozyten zu erwägen; Reutilisation wird durch die relativ hohe Kornzahl (um 20 Korn) unwahrscheinlich. Tierexperimentell zeigen die großen Lymphozyten lebhaftere eigene DNS-Synthese (50 % flash-Markierung -RIEKE (31) -) und deutlich rascheren Umsatz als die kleinen - ROBINSON (32). Im Ductus thoracicus des Kalbes zeigen sie eine Generationszeit von 5,5 - 6 Stunden (44); im Blut der Ratte fanden sie sich mit Umsatzzeiten um 24 Stunden (40). An menschlichen Daten zeigen die flash-Markierungen von WAGNER und ECKMANN (45) einen initialen Markierungsindex der großen Lymphozyten von 80 %. Die Angaben von CLARKSON (9) ergaben auffallenderweise nur Neubildungsraten zwischen 2 und 9 %/Tag, bzw. lange Umsatzzeiten zwischen 11 und 50 Tagen. Diese Kurvenverläufe weisen auf starke Inhomogenität hin und auch Contaminationen mit leukämischen Blasten können nicht ausgeschlossen werden. Bei Vernachlässigung dieser Werte lassen sich nach unseren Befunden im Gegensatz zu Normaldaten die großen Lymphozyten als inhomogene durchschnittlich 5- bis 10-fach langsamer umgesetzte G_0 -Zellen charakterisieren. Innerhalb der CLL allerdings zeigen sie einen ca. 20mal so schnellen durchschnittlichen Umsatz wie die kleinen Lymphozyten.

Vergleichbare Daten lassen sich aus den zitierten Arbeiten über die CLL kaum gewinnen, da keine Unterteilung der Lymphozyten durchgeführt wurde. Aus einigen Markierungsindices bei ZIMMERMANN (46) kann man ähnliche Neubildungsraten zwischen 2 %/Tag, 4 %/Tag und 5 %/Tag erschließen. Die im einzelnen diskutierten und den verfügbaren Normalbefunden gegenübergestellten Werte des Zellumsatzes der zwei untersuchten CLL-Patienten lassen sich in folgenden Feststellungen zum Pathomechanismus der dargestellten Fälle typisch benigner CLL ohne ausgeprägte Organomegalie zusammenfassen:

E. Zusammenfassung.

Aus dem autoradiographisch analysierten Markierungsverlauf der kleinen und großen Lymphozyten des Blutes bei zwei typischen CLL-Patienten nach i.v.-Verabfolgung von ^3H -Thymidin ergab sich, daß die mittleren Umsatzzeiten der kleinen und großen Lymphozyten im Blut auf das 5- bis 10-fache verlängert und die r e l a t i v e n Neubildungsraten reziprok erniedrigt sind. Der weite Spielraum in diesem Vergleich kommt wesentlich durch die Schwankungen in den Literaturangaben über die normale Lymphopoese zustande.

Beide periphere Zelltypen lassen aber deutlich Inhomogenität erkennen; bei den kleinen Lymphozyten ergibt sich aus der Existenz einer Minorität rascher umsetzender Zellen der Schluß auf noch längere Umsatzzeiten der Majorität der kleinen Lymphozyten. Demgegenüber ist zu betonen, daß bei nicht-CLL-Lymphozyten lange Umsatzzeiten sich stets auf eine verschwindend kleine Zellfraktion und Extremwerte auf Einzelzellen bezogen, die weit weniger pathomechanische Bedeutung haben können als die gezeigten Abweichungen einer Gesamtpopulation.

Bei Vergleich der durchschnittlichen absoluten Neuproduktion (von 230 bis 340 kleine Lymphozyten/ mm^3/Tag) jedoch mit dem Wert von $100/\text{mm}^3/\text{Tag}$, wie er sich für Normalpersonen aus den höchsten Neubildungsraten der Literatur errechnet (5 % (18,45)) zeigt sich, daß die a b s o l u t e Neuproduktion kleiner Lymphozyten in unseren CLL-Fällen mindestens um das 2- bis 3-fache gesteigert ist. Hieraus ergibt sich die langsam progrediente Zunahme der Lymphozytose, die bei Störungen der Poolverteilung, zu den typischen Organinfiltrationen führt.

So läßt sich mit den gewonnenen Daten die Auffassung DAMESHEK's (14) von der CLL als einer Akkumulationskrankheit langlebiger Lymphozyten belegen und erweitern, wobei die Rollen der übrigen pathomechanischen Faktoren wie Immundefekt und Rezirkulationsstörung, anderorts behandelt (7/20/33), in ihrer Bedeutung für den oben bewiesenen Proliferationsdefekt nicht geklärt sind.

Literatur

- 1) BAUCHINGER, M.: Chromosomenaberrationen und ihre zeitliche Veränderung nach Radium-Röntgentherapie gynäkologischer Tumoren. Strahlenther. 135, 553-564 (1968)

- 2) H. BEGEMANN, J. RASTETTER, W. KABOTH: Klinische Hämatologie. G. Thieme, Stuttgart 1970.

- 3) BIERMAN, H.R.: The leukemias - proliferative or accumulative. Blood 30, 238-250, (1967)

- 4) BINET, J.L., LOGEAIS, Y., VILLENEUVE, B., MATHEY, J. und BERNARD, J.: Examen de la lymphe au cours de la leucémie lymphoïde chronique. Nouv. Rev. Franc. Hemat., 6, 568-570 (1966)

- 5) BOND, V.P., FLIEDNER, T.M., CRONKITE, E.P., RUBINI, J.R., ROBERTSON, J.S.: Cell turnover in blood and bloodforming tissues studied with tritiated thymidine. In: F. STOHLMAN Jr., The kinetics of cellular proliferation, p. 188-200. New York: Grune & Stratton 1959

- 6) BOND, V.P., FLIEDNER, T.M., CRONKITE, E.P., RUBINI, J.R., BRECHER, G., SCHORK, P.K.: Proliferative potentials of bone marrow and blood cells studied by in-vivo uptake of H^3 -Thymidine. Acta Haematologica 21, 1-15 (1959)

- 7) BREMER, K., SCHICK, P., WACK, O., THEML, H., BRASS, B., HEIMPEL, H.: Rezirkulation von Lymphknoten bei Patienten mit malignen lymphatischen Systemerkrankungen. Blut 24, 215 (1972)

- 8) CHRISTENSEN, B.Chr., OTTESEN, J.: The age of leukocytes in the blood stream of patients with chronic lymphatic leukemia. Acta Haemat. 13, 289-293, (1955)

- 9) CLARKSON, B., STRIFE, A., FRIED, J., SAKAI, Y., OTA, K., OKKITA, T., MASUDA, R.: Studies of cellular proliferation in human leukemia. Cancer 26, 1, (1970)

- 10) CLEAVER, J.E.: Thymidine metabolism and cell kinetics.
North Holl. Publ. Comp. Amsterdam 1967
- 11) COURT-BROWN, W.M., BUCKTON, K. and McLEAN, A.S.:
Quantitative studies of chromosome aberration in man following
acute and chronic exposure to X-rays and gamma-rays. *Lancet* I,
1239 (1965)
- 12) CRONKITE, E.P., FLIEDNER, T.M., BOND, V.P., RUBINI, J.R.,
BRECHER, G., QUASTLER, H.: Dynamics of haemopoietic prolifera-
tion in man and mice studied by thymidine- H^3 incorporation
into DNA. *Internat. Conf, Atomic Energy, Nr. 840* (1958) Genf.
- 13) CRONKITE, E.P., BOND, V.P., FLIEDNER, T.M. and KILLMANN,
S.A.: The use of tritiated thymidine in the study of haemo-
poietic cell proliferation. *Ciba Foundation Symposium on Haemo-
poiesis. pp. 70-98, London: Churchill* (1960)
- 14) DAMESHEK, W.: Chronic lymphocytic leukemia - An accumula-
tive disease of immunologically incompetent lymphocytes.
Blood 29, 566, (1967)
- 15) EVERETT, N.B. and CAFFREY, R.W.: Radioautographic studies
of bone marrow small lymphocytes.
In: YOFFEY, J.M. (Ed) : *The Lymphocyte in Immunology and Haemo-
poieses, pp. 108-119, London: Arnold* 1967
- 16) FLIEDNER, T.M., CRONKITE, E.P., KILLMANN, S.A. and BOND,
V.P.: Potentialities and limitations of H^3 -Thymidine labeling
of haemopoietic cell systems in the study of their dynamics
of proliferation. *Proceeding of the eight congress of the
European Society of Haematology, Wien 1961, Beitrag 62.*
S. Karger, Basel-New York 1962.
- 17) FLIEDNER, T.M., CRONKITE, E.P. and ROBERTSON, J.S.:
Granulocytopoiesis I. Senescence and random loss of neutro-
philic granulocytes in human beings. *Blood* 24, 402-414 (1964)

- 18) FLIEDNER, T.M., BREMER, K., PRETORIUS, B., DRÜCKE, B., CRONKITE, E.P., FACHE, I.: Utilisation de la thymidine et de la cytidine tritiées pour l'étude du turnover et du métabolisme des lymphocytes chez l'homme. Nouvelle Revue Française d'Hématologie, 8, 5, 613-624, (1968).
- 19) GALTON, D.A.G.: The pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. Canad. Med. Ass. J. Vol. 94, 7, 1005-1010 (1966)
- 20) GREENBERG, M. L., CHANANA, A. D., CRONKITE, E.P., SCHIFFER, L.M. und STRYCKMANS, P.A.: Tritiated thymidine as an cytotoxic agent in human leukemia. Blood 28, 851-859 (1966)
- 21) HAAS, R.J., BOHNE, F., FLIEDNER, T.M.: Die Wirkung kontinuierlicher intrazellulärer Bestrahlung durch ^3H -Thymin auf schwangere Ratten und auf die Entwicklung ihrer Nachkommenschaft. Strahlentherapie 139, 5, 571-586 (1970)
- 22) HAAS, R.J., FLIEDNER, T.M.: The effect of tritiated thymidine on the oocytes of foetal rats following maternal infusion in pregnancy. Int. J. Radiat. Biol., Vol. 19, No. 2, 197-200, (1971)
- 23) HAMILTON, L.D.: Nucleic acid turnover studies in human leucemic cells and the function of lymphocytes. Nature 178, 597-599 (1956)
- 24) W. KABOTH und H. BEGEMANN: Physiologie des Menschen (ed. Gauer, Kramer, Jung). Bd. 5: Blut. Urban und Schwarzenberg, München, Berlin, Wien 1971.
- 25) KILLMANN, S.A.: Acute leukemia: The kinetics of leukemic blast cells in man. Ser. Haemat., Vol I, 3, 38-102 (1968)
- 26) LAJTHA, L.G., OLIVER, R.: The application of autoradiography in the study of nucleic acid metabolism. Lab. Invest. 8, 214-224 (1959)

27) OHARA, K., FRIED, J., DOWLING, M.D., SITTAR, E.S., CLARKSON, B.D.: Studies of cellular proliferation in human leukemia. *Cancer* 28, 862-885 (1971)

28) OSGOOD, E.E., TIVEY, H., DAVISON, K.B., SEAMAN, A.J., JONAH, G.L.: Relative rates of formation of new leukocytes in patients with acute and chronic leukemias. *Cancer* 5, 331-350 (1952)

29) OTTESEN, J.: On the age of human white cells in peripheral blood. *Acta Physiol. Scand.* 32, 75-93 (1954)

30) PFISTERER, H., NENNHUBER, J., BOLLAND, H., STICH, W.: Lymphocytenabbau nach in-vitro-Markierung mit $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$. II. Untersuchungen bei chronischer lymphatischer Leukämie. *Klin. Wschr.* 45, 1073-1076 (1967)

31) RIEKE, W.O., CAFFREY, R.W. and EVERETT, N.B.: Rates of proliferation and interrelationships of cells in the mesenteric lymph node of the rat. *Blood*, 22, 674-689 (1963)

32) ROBINSON, S.H., BRECHER, G., LOURIE, I.S. and HALEY, J.E.: Leukocyte labeling in rats during and after continuous infusion of tritiated thymidine: implications for Lymphocyte longevity and DNA reutilization. *Blood* 26, 281-295 (1965)

33) RUBIN, A.D., JOHNSON, L.I., BROWN, S.M.: Lymphocyte proliferation and lymphoproliferative disorders. *Progr. exp. Tumor Res.* Vol. 13, 135-180, (Karger, Basel/München/New York 1970)

34) SCHIFFER, L.M.: Kinetics of chronic lymphocytic Leukemia. *Ser. Haemat.*, Vol. I, 3-23, (1968)

35) SCHUTZE, B.: Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. II/5 (Altmann, H.W., BÜCHNER, FF., COTTIER, H., HOLLE, G., LETTERER, E., RASSHOFF, W., MEESSEN, H., ROULE, F., SEIFERT, G., SIEBERT,

G. und STUDER, A., Herausgeber) S. 466-670, Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1968

36) SPIVAK, J.L. and SLYMOUR, P.: Lymphocyte kinetics in chronic lymphocytic leukemia. British Journal of Haematologie, Vol. 18, No. 5, (1970)

37) H. THEML, P. SCHICK, F. TREPEL, BE SWAN LEE, W. KABOTH, H. BEGEMANN und T.M. FLIEDNER: Kontinuierliche ^3H -Thymininfusion bei CLL: I. Neubildung und Umsatz von Lymphozyten. In: Leukämie, Ed: R. Gross, J. van de Loo, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972, pp. 180-185.

38) THEML, H., TREPEL, F., RASTETTER, J. und BEGEMANN, H.: DNS- und RNS-Synthese in benignen und malignen Lymphomen. Klin. Wschr. 45, 608-618 (1967)

39) TREPEL, F., RASTETTER, J., THEML, H. und STOCKHUSEN, G.: Nucleinsäuresynthese und Zytostatikawirkung in pathologischen Lymphknotenzellen. Med. Klin. 61, 618-622 (1966)

40) TREPEL, F. und RASTETTER, J.: Untersuchungen zur funktionellen Differenzierung der mononukleären Leukozyten. Blut 15, 76-82 (1967)

41) TREPEL, F.: Zur Kinetik der mononukleären Blutzellen. In: Wert und Bedeutung histochemischer Methoden für die klinische Diagnostik. Acta Histochemica Suppl. IX, 153-168 (1970)

VEB Fischer, Jena 1970

42) F. TREPEL, H. THEML, P. SCHICK, G. SCHNEBLE, K. BREMER, T.M. FLIEDNER und H. BEGEMANN: Kontinuierliche ^3H -Thymininfusion bei CLL: II. Proliferation der Lymphknotenzellen. In: Leukämie, Ed: R. Gross, J. van de Loo, Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1972, pp. 187-191.

43) TSIRIMBAS, A.D., WITTMANN, K. und DORMER, P.: Zellkinetik in Lymphdrüsen. I. Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure-

Synthesedauer bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie durch Doppelmarkierung mit ^3H -Thymidin und ^{14}C -Thymidin in vivo. Klin. Wschr. 48, 923-929 (1970)

44) WAGNER, H.P., COTTIER, H., CRONKITE, E.P., CUNNIHAM, L., JANSEN, C.R., RAI, K.R.: Studies on lymphocytes.

V. Short in vivo DNA synthesis and generation time of lymphoid cells in the calf thoracic duct after simulated or effective extracorporal irradiation of circulation blood. Exp. Cell. Res. 46, 441-451 (1967)

45) WAGNER, H.P., ECKMANN, L.: Proliferative Eigenschaften normaler lymphoider Zellen des Menschen in vivo. Schweizerische Krebstagung, Bern, Oktober 1971. (Abstr.)

46) WIMBER, D.E.: Methods for studying cell proliferation with emphasis on DNA labels. In Lamerton and Fry: Cell proliferation, p. 1-17. Oxford: Blackwell sci. Publ. 1963.

47) ZIMMERMANN, Th., GODWIN, H.A., SEYMOUR, P.: Studies of leukocyte kinetics in chronic lymphocytic leukemia. Blood 31, 277-291 (1968)

Herrn Professor Dr. Begemann danke ich für die Überlassung dieser Arbeit und für die Möglichkeit, die Einrichtungen des Hämatologischen Labors seiner Klinik zu benutzen.

Bei der Technischen Durchführung leistete mir Herr Dr. med. H. Thöml Beistand; seine unermüdliche Hilfsbereitschaft und freundschaftliche Kritik erleichterten mir wesentlich die Einarbeitung in die Thematik.

Lebenslauf

Am 26.7.1947 wurde ich als viertes Kind meines Vaters
Be Tiang Hien und meiner Mutter Tan Kwee Giok Lan in Semarang
(Indonesien) geboren. In dieser Stadt besuchte ich auch sechs
Jahre lang die Volksschule.

1959 besuchte ich die mittlere Schule drei Jahre lang und nach
weiteren drei Jahren Oberschule legte ich im Juli 1965 die
Reifeprüfung ab.

Seit Februar 1966 bin ich in Deutschland. Das Medizinstudium
begann ich im Sommersemester 1967 an der Universität München,
nachdem ich zuvor ein Semester Naturwissenschaft belegt hatte.
Im Frühjahr 1968 bestand ich die naturwissenschaftliche und im
Oktober 1969 die ärztliche Vorprüfung.

Am 1.3.1973 legte ich das ärztliche Staatsexamen ab.

Im Mai 1973 fing ich als Medizinalassistent auf der chirurgischen
Abteilung des Krankenhauses St. Trudpert in Pforzheim an, ver-
brachte anschließend ab Oktober 1973 sieben Monate auf der inneren
Abteilung des gleichen Hauses.

Seit August 1974 bin ich im Kreiskrankenhaus Brake auf der
chirurgischen Abteilung tätig.

